Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

Nachweis von Systox und Metasystox durch Schwermetallkomplexverbindungen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ute Weigel
aus Erlangen

Erlangen 1963

1962 No 77

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. G. Theissing
Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 8. 1963

D 29

Archiv für Toxikologie 20, 114—126 (1963)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

Nachweis von Systox und Metasystox durch Schwermetallkomplexverbindungen*

Von

M. Geldmacher-Mallinckrodt und U. Weigel

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Januar 1963)

* Die Arbeit wurde mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen.

Die Schwierigkeiten des Nachweises von *Metasystox*, dem Dimethylthiophosphorsäureester des β-Oxyäthylthioäthyläthers $(CH_3O)_2$—P(O)S—C_2H_4—S—C_2H_5), sind dem Toxikologen bekannt. Neben anderen haben sich hierzu K. Fischer und W. Specht 1958 besonders kritisch geäußert. Bis dahin war kein einfacher, sicherer und schneller Nachweis bekannt. Dasselbe gilt für *Systox*, den Diäthylthiophosphorsäureester des β-Oxyäthylthioäthyläthers. 1960 berichteten R. Fischer und W. Klingelhöller über den dünnschichtchromatographischen Nachweis von Thiophosphorsäureestern durch Hydrolyse und Feststellung der dabei entstehenden Diäthyl- bzw. Dimethylthiophosphorsäure. Der Nachweis dieser Spaltprodukte fiel auch bei Anwesenheit von Systox und Metasystox sowie vieler anderer Derivate der Dimethyl- und Diäthylthiophosphorsäure positiv aus. Damit war ein wichtiger Gruppennachweis gegeben.

E. Weinig, L. Lautenbach und M. Geldmacher-Mallinckrodt gelang, gleichfalls 1960, auf gaschromatographischem Wege eine weitere Einengung des Nachweises auf diejenigen Derivate der Dimethyl- und Diäthylthiophosphorsäure, die mit β-Oxyäthylthioäthyläther HO—C_2H_4—S—C_2H_5 verestert waren; das sind Systox und Metasystox. Die Autoren gingen hierbei von den Spaltprodukten aus, die im neutralen, sauren und alkalischen Milieu, sowie nach Umsatz mit Natriumäthylat und Natriummethylat entstanden:

β-Oxyäthylthioäthyläther
β-Mercaptoäthylthioäthyläther
Äthandithiol-diäthyläther
Äthandithiol-methyläthyläther.

Da der gaschromatographische Nachweis dieser Substanzen nicht völlig spezifisch und außerdem an eine kostspielige Apparatur gebunden ist, war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, ihn durch ein mit einfachen

Mitteln durchführbares spezifisches Verfahren zu ergänzen oder zu ersetzen.

Für den Nachweis dienten einige der Reaktionsprodukte, die bei der Hydrolyse sowie beim Umsatz mit Alkoholat entstehen:

Äthandithiol-diäthyläther	$C_2H_5—S—C_2H_4—S—C_2H_5$
Äthandithiol-methyläthyläther	$CH_3—S—C_2H_4—S—C_2H_5$
β-Mercaptoäthylthioäthyläther	$HS—C_2H_4—S—C_2H_5$

Bevor auf die Identifizierung eingegangen wird, sollen zunächst die wichtigsten Eigenschaften dieser Stoffe kurz beschrieben werden.

Äthandithiol-diäthyläther ist eine übelriechende, farblose Flüssigkeit; Kp = 210—213° C (W. Hieber).

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Äthandithiol-diäthyläther wurde in der folgenden Weise dargestellt: 8 g Systox wurden mit 32 ml Äthanol und 2,2 g metallischem Natrium 2 Std unter Rückfluß erhitzt. Nach Hinzufügen von Wasser konnte der entstandene Äthandithiol-diäthyläther mittels Wasserdampfdestillation aus dem Reaktionsansatz entfernt werden. Das Wasserdampfdestillat wurde ausgeäthert, der Äther nach Trocknen verdampft und der Extraktionsrückstand im Vakuum bei 1 mm Hg fraktioniert destilliert.

Die Hauptfraktion besaß dabei einen Siedepunkt von 59° C.

Die Elementaranalyse ergab Werte, die gut mit den für eine Verbindung $C_6H_{14}S_2$ zu erwartenden übereinstimmen:

	C	H	S
gefunden	47,56	9,26	39,90
berechnet	47,95	9,39	42,66

Äthandithiol-methyläthyläther ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Dieser Äther stellt gleichfalls eine übelriechende, farblose Flüssigkeit dar.

Wir stellten ihn analog der bereits beschriebenen Darstellung von Äthandithiol-diäthyläther durch Umsatz von Metasystox-i mit Natriummethylat dar.

Bei der Vakuumdestillation (4 mm Hg) hatte die Hauptfraktion einen konstanten Siedepunkt von 67° C.

Die Elementaranalyse ergab Werte, die gut mit einer Verbindung $C_5H_{12}S_2$ übereinstimmen:

	C	H	S
gefunden	44,38	8,58	43,26
berechnet	44,07	8,89	47,05

β-Mercaptoäthylthioäthyläther ist eine intensiv nach Mercaptan riechende, farblose Flüssigkeit; Kp = 188° C*.

* Wir verwendeten ein Präparat, das uns liebenswürdigerweise von Herrn Dr. G. Schrader, Wuppertal-Elberfeld, zur Verfügung gestellt wurde, wofür wir ihm vielmals danken.

I. Kristallisierende Schwermetallkomplexe

In der Literatur wird die Neigung des Äthandithiol-diäthyläthers, gefärbte Metallkomplexe zu bilden, hervorgehoben. Das ließ den Versuch eines Nachweises auf diesem Weg aussichtsreich erscheinen. Geprüft wurden die Reaktionen mit *zweiwertigen Metallen:* Mit Cu-, Co-, Ni- und Fe-Salzen. Die Platin-, Osmium- und Rhenium-Komplexe wurden des relativ hohen Reagenspreises wegen nicht in Erwägung gezogen.

Kupferkomplexe

L. Tschugaeff fand 1908, daß organische Disulfide von der allgemeinen Formel R—S—C_2H_4—S—R (R=CH_3; C_2H_5; C_3H_7; C_4H_9; C_5H_{11}; C_6H_5—CH_2) mit Kupferchlorid dunkelgrüne Kristallkomplexe bilden, wogegen eine Kristallbildung mit Disulfiden der allgemeinen Formel R—S—S—R, R—S—CH_2—S—R, R—S—$(CH_2)_3$—S—R und R—S—$(CH_2)_5$—S—R nicht eintritt. Er nahm an, daß das Kupferatom bei Verbindungen des Typs R—S—$(CH_2)_2$—S—R an die beiden Schwefelatome gebunden wird, wodurch ein stabiler Fünfring entsteht.

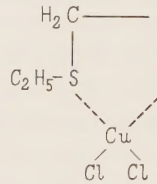


Abb. 1. Formel des Äthandithiol-diäthyläther-Kupferkomplexes nach Tschugaeff

Für das Reaktionsprodukt zwischen Äthandithiol-diäthyläther und Kupferchlorid nimmt Tschugaeff die Formel $CuCl_2(C_2H_5$—S—C_2H_4—S—$C_2H_5)$ an (Abb. 1). Er beschreibt als erster die grünen prismatischen Kristalle, die bei 113°C schmelzen sollen und sich mit Wasser zersetzen.

Zunächst wurden die Angaben über diese Reaktion mit Kupfer-Reagens nach Tschugaeff [2 g $CuCl_2$, 10 ml H_2O, 2,5 ml konz. HCl (d = 1,19)] nachgeprüft. Der verwendete Äthandithiol-diäthyläther gelangte in Xylol gelöst zur Anwendung.

Die Versuche wurden auf dem Objektträger oder in Mikrozentrifugengläsern durchgeführt. Zu je 0,2 ml Kupfer-Reagens wurden 0,003 ml *Äthandithiol-diäthyläther*lösung in absteigender Konzentration gegeben. Hierbei bildeten sich im Mikrozentrifugenglas noch mit 200 γ, auf dem Objektträger noch mit 150 γ Äthandithiol-diäthyläther grüngelbe, rautenförmige Kristalle (Abb. 2).

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes wurden die im Zentrifugenglas entstandenen Kristalle abzentrifugiert, von der überstehenden Lösung durch Dekantieren befreit, in wenig Äthanol unter Erwärmen gelöst und erneut zur Kristallisation gebracht. Die über konz. H_2SO_4 getrockneten Kristalle besaßen einen Schmelzpunkt von 129—130° C (Kofler).

Mit *Äthandithiol-methyläthyläther* wurde die Reaktion in derselben Weise durchgeführt. Hier bildeten sich im Mikrozentrifugenglas bis

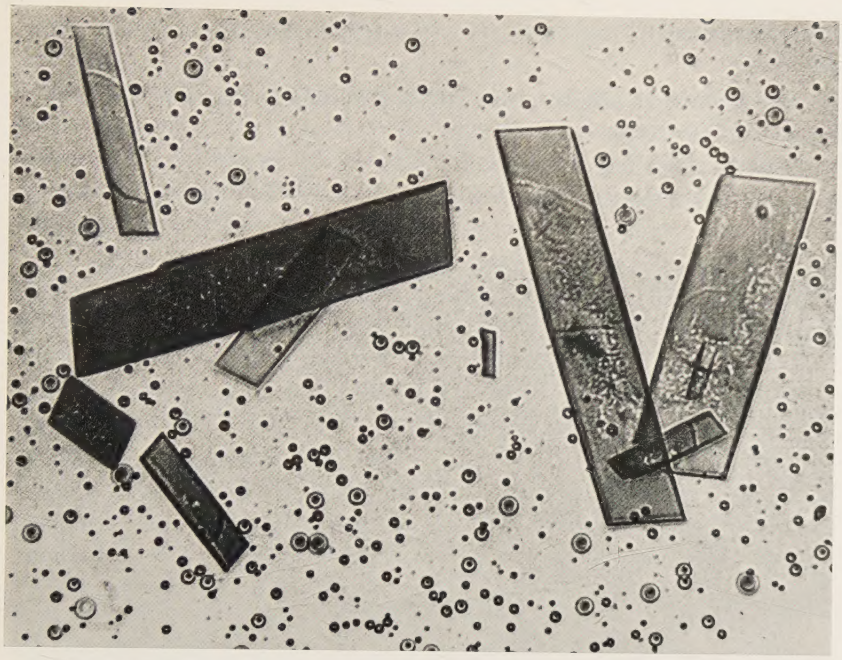


Abb. 2. Äthandithiol-diäthyläther-Kupferkomplexkristalle

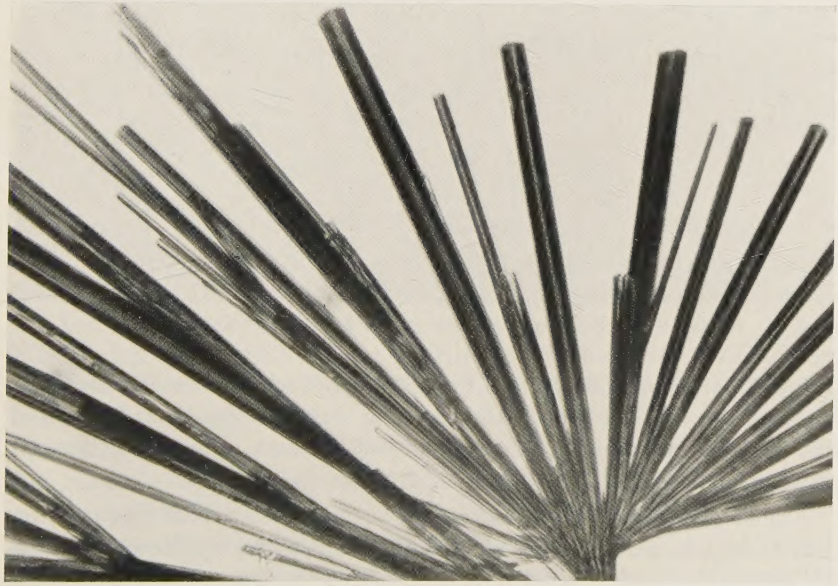


Abb. 3. Äthandithiol-methyläthyläther-Kupferkomplexkristalle

500 γ, auf dem Objektträger bis 300 γ tiefdunkelgrüne, lange Prismen (Abb. 3).

Der Schmelzpunkt lag nach Umkristallisieren aus Äthanol bei 115 bis 116° C (Kofler).

Weitere Versuche zeigten, daß sich durch Ersatz des Wassers im Reagens durch Äthanol die Nachweisempfindlichkeit steigern läßt. In der gleichen Versuchsanordnung ließen sich im Mikrozentrifugenglas

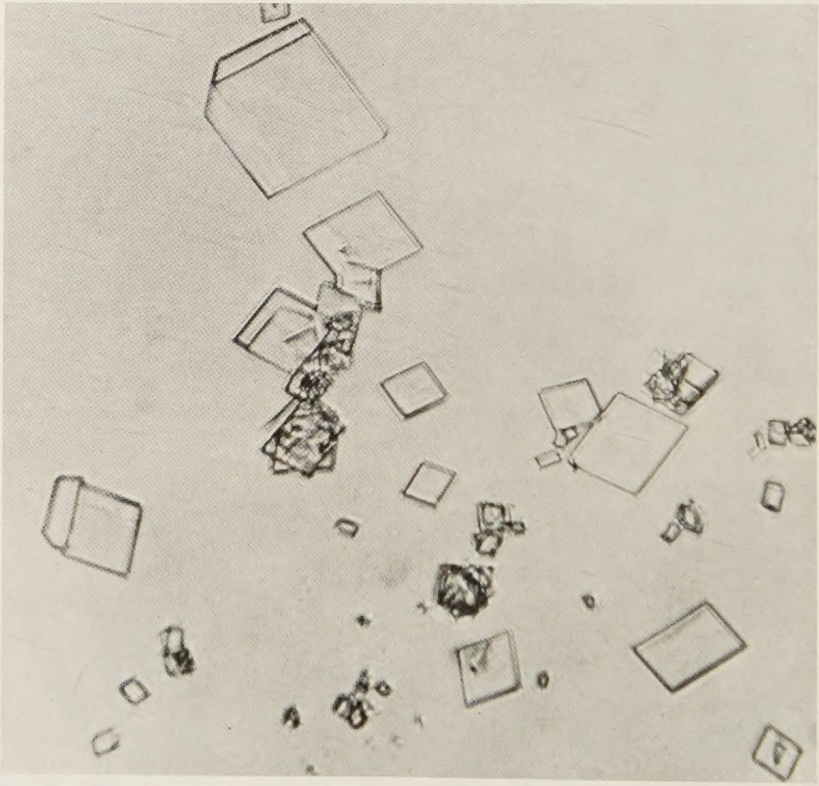


Abb. 4. β-Mercaptoäthylthioäthyläther-Kupferkomplexkristalle

100 γ *Äthandithiol-diäthyläther* und 150 γ *Äthandithiol-methyläthyläther* nachweisen, auf dem Objektträger 50 γ *Äthandithiol-diäthyläther* und 100 γ *Äthandithiol-methyläthyläther*. Kristallform und Schmelzpunkt wurden nicht beeinflußt.

Auch die sich bei der Umsetzung von Metasystox und Systox unter Umständen in geringer Menge bildenden Spaltstücke β-Mercaptoäthylthioäthyläther und β-Oxyäthylthioäthyläther wurden auf Kristallbildung

mit den Kupferreagentien in der oben beschriebenen Versuchsanordnung untersucht.

β-Mercaptoäthylthioäthyläther bildet kleine, helle, quadratische bis rechteckige Kristalle (Abb. 4). Der Schmelzpunkt lag nach Umkristallisieren aus viel Äthanol bei 119—120° C (Kofler). Die Nachweisgrenze betrug im Mikrozentrifugenglas 50 γ, auf dem Objektträger 25 γ mit dem wäßrigen Kupferreagens.

Diese Reaktion ermöglicht einen weiteren Nachweis von Systox und Metasystox nach Erhitzen mit konz. HCl, wobei sich, wie gaschromatographische Untersuchungen zeigten, reichlich und fast ausschließlich β-Mercaptoäthylthioäthyläther bildet.

β-Oxyäthylthioäthyläther zeigte keinerlei Kristallbildung.

Geht man von Systox und Metasystox aus, so muß neben den oben genannten Spaltprodukten auch an eine Beimischung unveränderter Ausgangssubstanz gedacht werden. Systox- und Metasystox-i-Originalpräparate, daneben auch Metasystox-i ohne Emulgator wurden deshalb auf eine Kristallbildung mit dem wäßrigen und alkoholischen Kupferreagens in der bereits beschriebenen Versuchsanordnung untersucht. Es zeigte sich hierbei lediglich eine bräunliche Verfärbung der Reagentien.

Dieser Befund ist zunächst überraschend, da Systox und Metasystox auf Grund der in ihnen vorliegenden Atomgruppierung (—S—CH_2—CH_2—S—) die Fähigkeit zur Komplexbildung mit $CuCl_2$ besitzen sollten. Ein asymmetrischer Aufbau des Disulfids muß, wie am Beispiel von Äthandithiol-methyläthyläther gezeigt werden konnte, die Fähigkeit zur Komplexbildung nicht beeinträchtigen. Es ist jedoch daran zu denken, daß der Thiophosphorsäurerest die Komplexbildung aus sterischen Gründen verhindert, ähnlich wie es L. Tschugaeff bei der Verbindung C_6H_5—S—CH_2—CH_2—S—C_6H_5 fand.

Nickelkomplex

L. Tschugaeff beschreibt auch Anlagerungsreaktionen organischer Disulfide der Konstitution —S—CH_2—CH_2—S— mit Nickel-Rhodanid.

Aus Äthandithiol-diäthyläther und einem Nickelreagens (2,5 g $NiSO_4$, 1,25 g NH_4SCN, 20 ml H_2O) erhält er hellblaue Nadeln oder Prismen, für die er die Formel $Ni(C_2H_5—S—C_2H_4—S—C_2H_5)_2$ $(SCN)_2$ annimmt. Die Substanz ist in Wasser sehr schwer löslich und zerfällt in wäßriger Lösung rasch in die Komponenten. Ein Schmelzpunkt ließ sich nicht bestimmen, da beim Erhitzen auf 100° Zersetzung eintrat.

Mit der zur Herstellung der Kupferkomplexe verwendeten Versuchsanordnung wurden die Reaktionen mit dem Nickelreagens und *Äthandithiol-diäthyläther* nachgearbeitet. Dabei erhielten wir im Mikrozentri-

fugenglas noch mit 200 γ, auf dem Objektträger mit 80 γ hellblaue Kristalle.

Mit *Äthandithiol-methyläthyläther* wurde ungefähr die gleiche Empfindlichkeit erreicht. Die Kristalle ließen sich mikroskopisch nicht von denen des Äthandithiol-diäthyläthers unterscheiden.

Versuche, wie beim Kupferreagens das Wasser durch Alkohol zu ersetzen, führten zu einer Heraufsetzung der Nachweisgrenze und verzögerten die Kristallbildung. Dies mag an der durch die schlechte Löslichkeit in Äthanol bedingten geringen Nickelkonzentration liegen.

β-Mercaptoäthylthioäthyläther, β-Oxyäthylthioäthyläther, sowie Systox und Metasystox-i bildeten unter den angegebenen Versuchsbedingungen keine Kristallkomplexe mit $Ni(SCN)_2$.

Kobaltkomplexe

Weiterhin prüften wir ein alkoholisches und ein wäßriges Kobaltreagens auf eine eventuelle Komplexbildung mit Äthandithiol-diäthyläther und Äthandithiol-methyläthyläther. Die Zusammensetzung des Reagenses entsprach etwa derjenigen der beiden Nickelreagentien (2,5 g $Co(NO_3)_2$, 1,25 g NH_4SCN, 10 ml H_2O bzw. 10 ml Äthanol).

Mit dem wäßrigen Reagens konnten im Mikrozentrifugenglas noch 800 γ, auf dem Objektträger 300 γ Äthandithiol-diäthyläther bzw. Äthandithiol-methyläthyläther nach etwa 15 min an einem gelbgrünen amorphen Niederschlag erkannt werden, der sich deutlich von dem umgebenden weinroten Reagens abhob. Ein Unterschied in der Kristallform beider Substanzen war nicht zu sehen.

Mit dem tiefblauen alkoholischen Kobaltreagens bildeten sich bis 600 γ Äthandithiol-diäthyläther und Äthandithiol-methyläthyläther auf dem Objektträger citronengelbe Prismen und benzolringartige Kristalle.

Im Mikroreagensglas trat zunächst eine grünbraune Verfärbung des Reagenses ein. Später auftretende Kristalle konnten aber von den im Leerversuch sich langsam ausscheidenden Reagensbestandteilen nicht unterschieden werden.

Mit β-Mercaptoäthylthioäthyläther, β-Oxyäthylthioäthyläther, Systox und Metasystox-i trat keine Kristallbildung ein.

Eisen-II-Komplexe

Wir versuchten, in dem Nickelreagens das Nickel durch Fe^{II} zu ersetzen und so ein einfaches Reagens herzustellen. Es konnte aber auf diese Weise mit keiner bisher geprüften Substanz eine verwertbare Kristallbildung erreicht werden.

Prüfung der Anwendbarkeit am Originalpräparat

Dis bisherigen Ergebnisse mit den Spaltprodukten Äthandithioldiäthyläther, Äthandithiol-methyläthyläther und β-Mercaptoäthylthioäthyläther waren an Reinsubstanz gewonnen worden. Wir prüften deshalb noch die Anwendbarkeit des Nachweises von Metasystox und

Systox über die beschriebenen Schwermetallkomplexe, indem wir von einem Originalpräparat (Systox) selbst ausgingen.

Zunächst wurden 0,2 ml Systox-Originalpräparat, enthaltend 100 mg Wirksubstanz, mit 70 mg metallischem Natrium in 1 ml *Äthanol* 1 Std unter Rückfluß erhitzt. Das überschüssige Alkoholat wurde mit Wasser zersetzt und das abgekühlte Reaktionsgemisch mit wenig Äther ausgeschüttelt.

Bei der Konzentrierung der Ätherphase trat ein relativ großer Verlust an Äthandithiol-diäthyläther ein. Deshalb wurde der Äther in einem 40° C-Bad über einen mit Wasser von 37° C gespeisten Rückflußkühler entfernt, was, wie gaschromatographische Kontrollen ergaben, die Ausbeute an Äthandithiol-diäthyläther wesentlich erhöhte. Der mit Äthandithiol-diäthyläther stark angereicherte Rückstand im Kolben wurde sodann mit dem alkoholischen Kupferreagens versetzt. Sowohl auf dem Objektträger als auch im Mikrozentrifugenglas ließen sich die typischen Äthandithiol-diäthyläther-Kristalle nachweisen.

In der gleichen Weise wurden 0,2 ml *Systox*-Originalpräparat (100 mg Wirkstoff) mit *Natriummethylat* (70 mg metallisches Natrium + 1 ml Methanol) zur Reaktion gebracht. In der Ätherphase ließ sich gaschromatographisch fast ausschließlich Äthandithiol-methyläthyläther nachweisen. Die angereicherte Lösung des Äthandithiol-methyläthyläthers nahm nach Hinzufügen von alkoholischem Kupferreagens eine tief-dunkelgrüne Farbe an; nach einiger Zeit schieden sich im Mikrozentrifugenglas die großen, dunkelgrünen, für Äthandithiol-methyläthyläther charakteristischen Kristalle aus. Auch auf dem Objektträger ließen sich mit einem kleinen Anteil des Kölbcheninhaltes gut ausgeprägte Kristalle des Äthandithiol-methyläthyläther-Kupferkomplexes gewinnen.

Auch nach einstündiger Verkochung unter Rückfluß von 0,2 ml *Systox*-Originalpräparat mit 2 ml *konc. HCl* und der bereits beschriebenen Aufarbeitung konnten mit dem alkoholischen Kupferreagens im Mikrozentrifugenglas nach ungefähr 2 Std große weißliche Kristalle in einer bräunlichen überstehenden Lösung erhalten werden, die mikroskopisch in allen Eigenschaften mit den Kristallen des β-Mercaptoäthylthioäthyläther-Kupferkomplexes übereinstimmten.

II. Dünnschichtchromatographischer Nachweis

Die zur Kristallbildung verwendeten Reagentien erlauben auch einen spezifischen Nachweis der genannten Spaltprodukte nach dünnschichtchromatographischer Auftrennung.

Als günstigstes *Streichmittel* für die Dünnschichtplatten erwies sich Kieselgel G, Merck.

Als *Laufmittel* zur Auftrennung wurden geprüft: Methylalkohol, Äthylalkohol, Butylalkohol, Äthylacetat, Äther, Chloroform, Epichlorhydrin, Pyridin, Dioxan, Tetrahydrofuran, Dimethylformamid, Petroläther und Toluol. Die beste Auftrennung erhielten wir mit einem Gemisch von Toluol/Petroläther im Verhältnis 2:1. Die Laufzeit betrug hier durchschnittlich 22 min. Die R_f-Werte wurden zunächst an Reinsubstanzen nach Entwicklung der Platten mit N-Bromsuccinimid/Fluorescein bestimmt (Cook) (Tabelle 1).

Tabelle 1

	R_f
Systox	0,05
Metasystox	0,05
β-Oxyäthylthioäthyläther	0,07
Äthandithiol-methyläthyläther	0,40
Äthandithiol-diäthyläther	0,40
β-Mercaptoäthylthioäthyläther	0,45

Tabelle 2. *Salzsaures alkoholisches Cu-Reagens* (2 g $CuCl_2$, 10 ml Äthanol, 2,5 ml konz. HCl)

Substanz	Farbe	Nachweisgrenze γ
Systox	braun	12,5
Metasystox-i	braun	3
Äthandithiol-methyläthyläther	grün	3
Äthandithiol-diäthyläther	grün	3
β-Mercaptoäthylthioäthyläther	braun-violett	6
β-Oxyäthylthioäthyläther	gelb-grün	12

Tabelle 3. *Alkoholisches Co-Reagens* (2,5 g $Co(NO_3)_2$, 1,25 g NH_4SCN, 10 ml Äthanol)

Substanz	Farbe	Nachweisgrenze γ
Systox	türkis	6
Metasystox-i	türkis	6
Äthandithiol-methyläthyläther[1]	grün-braun	6
Äthandithiol-diäthyläther[1]	grün-braun	6
β-Mercaptoäthylthioäthyläther	braun	3
β-Oxyäthylthioäthyläther	blau	25

[1] Der Farbton ist erst nach einigen Minuten voll ausgebildet.

Bei den beiden Äthandithioläthern konnten auch mit anderen Laufmitteln keine unterschiedlichen R_f-Werte erreicht werden. Ihre R_f-Werte und der R_f-Wert des β-Mercaptoäthylthioäthyläthers liegen verhältnismäßig dicht beieinander, letzterer unterscheidet sich jedoch deutlich durch die weiter unten beschriebenen Farbreaktionen mit den verwendeten Sprühreagentien.

Als *Sprühreagentien* können dieselben Lösungen verwendet werden wie zur Kristallkomplexbildung. Die alkoholischen Lösungen erwiesen sich auch auf der Platte als empfindlicher. Besonders geeignet waren das Kupfer- und das Kobalt-Reagens. Eine Übersicht über die Farbreaktionen und die Empfindlichkeit bei Reinsubstanzen geben Tabelle 2 und 3.

Prüfung der Anwendbarkeit an Originalpräparaten

Um die Empfindlichkeit des Nachweises nach Umsatz mit Alkoholat zu prüfen, wurden abnehmende Mengen von *Metasystox-i* (Original-

präparat) mit 70 mg metallischem Natrium und 1 ml *Methanol* in der bereits beschriebenen Weise 1 Std unter Rückfluß erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde nach Zersetzen des Alkoholates mit Wasser ausgeäthert und der Äther aus einem 40° C-Bad über einen mit Wasser von 37° C gespeisten Kühler abgedampft. Die zurückbleibende Lösung wurde auf die Dünnschichtplatte aufgetragen. Nach Auftrennung und Besprühen mit dem alkoholischen Kupferreagens zeigte sich in Höhe des als Testsubstanz mitgeführten Äthandithiol-methyläthyläthers ein grüner Fleck (Abb. 5) noch bei Einsatz von etwa 750 γ Metasystox-i-Wirksubstanz im Originalpräparat (Grenze für den gaschromatographischen Nachweis bei dem gleichen Aufbereitungsverfahren: 250 γ Metasystox-i-Wirksubstanz).

Abb. 5. Dünnschichtchromatographische Auftrennung von 1. Äthandithiol-methyläthyläther; 2. Metasystox-i mit Na-Methylat umgesetzt. Sprühreagens: alkoholische Kupferchloridlösung

Der Umsatz der gleichen Menge *Metasystox-i*-Originalpräparat mit *Na-Äthylat* ergab gleichfalls noch eine schwache Grünfärbung in Höhe des R_f-Wertes 0,40.

Der Umsatz mit Methylat scheint eine etwas höhere Ausbeute an Äthandithioläther zu liefern.

In beiden Fällen konnte neben Äthandithioläther ($R_f = 0{,}40$, grün) auch β-Mercaptoäthylthioäthyläther ($R_f = 0{,}45$, braun) in geringen Mengen nachgewiesen werden, außerdem ließ sich nichtumgesetztes Ausgangsmaterial am Start erkennen.

Noch mit 0,01 ml (= 5 mg Wirkstoff) *Systox*-Originalpräparat waren nach Umsatz mit *Äthylat* auf der Dünnschichtplatte Äthandithiol-diäthyläther und β-Mercaptoäthylthioäthyläther neben nicht umgesetztem Ausgangsmaterial zu erkennen.

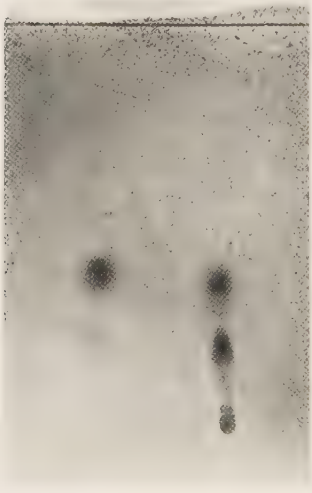
Bei Verkochung von *Systox* mit *konz. HCl*, dünnschichtchromatographischer Auftrennung und Entwicklung der Platte mit dem alkoholischen Kobaltreagens waren gleichfalls 0,01 ml Systox (= 5 mg Wirkstoff) über β-Mercaptoäthylthioäthyläther nachweisbar.

Prüfung der Methode im Tierversuch

Zur Prüfung der Brauchbarkeit des entwickelten Nachweisverfahrens nach Isolierung der Thiophosphorsäureester aus biologischem Material wurde ein 3,4 kg schweres Kaninchen, das vorher 24 Std gehungert

hatte, mit 8,2 g Metasystox-i-Originalpräparat (2,05 g Wirkstoff) vergiftet. Das Tier verendete nach 13 min und wurde nach 24stündiger Aufbewahrung bei Raumtemperatur seziert. Der Mageninhalt bestand aus einer 110 g wiegenden Masse mit intensiv lauchartigem Geruch.

Der gesamte Mageninhalt wurde mit 200 ml Aceton durchgeschüttelt, vom Lösungsmittel durch Filtration abgetrennt, und nochmals mit 100 ml Aceton nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden auf dem Wasserbad vom Aceton befreit. Der wäßrige Verdampfungsrückstand wurde ausgeäthert, der Ätherextrakt mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, und in der bereits beschriebenen Weise vom Äther befreit.



1 2

Abb. 6. Metasystox-i-Nachweis im Mageninhalt eines Kaninchens nach dünnschichtchromatographischer Auftrennung. (1): 50 γ β-Mercaptoäthylthioäthyläther; (2): Magenextrakt (Aceton) nach Verkochung mit konz. HCl. Sprühreagens: alkoholische Kobaltnitratlösung

0,3 ml dieses konzentrierten Magenextraktes wurden mit 3 ml *Na-Methylat*lösung 1 Std am Rückflußkühler erhitzt, mit 10 ml Wasser versetzt, ausgeäthert und konzentriert.

Ein Teil des angereicherten Reaktionsproduktes wurde auf dem Objektträger und im Mikrozentrifugenglas mit dem alkoholischen Kupferreagens zur Reaktion gebracht. In beiden Fällen bildeten sich reichlich die typischen dunkelgrünen Kristalle des Äthandithiol-methyläthyläther-Kupferkomplexes. Die (nicht umkristallisierten) Kristalle hatten einen Schmelzpunkt zwischen 110 und 111° C (Kofler).

Dünnschichtchromatographisch und gaschromatographisch konnte im konzentrierten Reaktionsprodukt gleichfalls Äthandithiol-methyläthyläther nachgewiesen werden.

Nach Verkochung des konzentrierten Magenextraktes mit konc. HCl, wobei nach dem Ergebnis einer gaschromatographischen Untersuchung reichlich β-Mercaptoäthylthioäthyläther entstanden war, trat mit dem alkoholischen Kupferreagens keine Kristallbildung ein. Diese Reaktion ist offenbar empfindlich gegen Verunreinigungen.

Jedoch war der β-Mercaptoäthylthioäthyläther dünnschichtchromatographisch eindeutig mit den alkoholischen Kobalt- und Kupfer-Reagentien nachzuweisen (Abb. 6).

Nach den aufgeführten Untersuchungsergebnissen ist für den Nachweis von Systox bzw. Metasystox das folgende Vorgehen zweckmäßig:

IV. Arbeitsanweisung

Metasystox

1. *Umsatz mit Natriummethylat* (Bildung von *Äthandithiol-methyläthyläther*).

a) Prüfung des Reaktionsproduktes auf der Dünnschichtplatte neben Äthandithiol-methyläthyläther als Testsubstanz.

Sprühreagens: alkoholische Kupferchloridlösung.

b) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens unter Bildung des Äthandithiol-methyläthyläther-Kupferkomplexes auf dem Objektträger; Betrachtung im Mikroskop.

c) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens im Mikrozentrifugenglas; Bestimmung des Schmelzpunktes des Kristallkomplexes.

d) Gaschromatographischer Nachweis.

2. *Umsatz mit Natriumäthylat* führt gleichfalls zur Bildung von *Äthandithiol-methyläthyläther* und bringt dasselbe Ergebnis wie unter 1. beschrieben.

3. *Umsatz mit konz. Salzsäure* (Bildung von *β-Mercaptoäthylthioäthyläther*).

a) Prüfung des Reaktionsproduktes auf der Dünnschichtplatte; Entwicklung der Platte mit dem alkoholischen Kupferreagens sowie mit dem noch empfindlicheren alkoholischen Kobaltreagens.

b) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens unter Bildung des β-Mercaptoäthylthioäthyläther-Kupferkomplexes auf dem Objektträger; Betrachtung im Mikroskop.

c) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens im Mikrozentrifugenglas; Bestimmung des Schmelzpunktes des Kristallkomplexes.

d) Gaschromatographischer Nachweis.

Die unter 3 b) und c) genannten Reaktionen gelingen nach Isolierung von Metasystox aus biologischem Material durch die Verunreinigungen nur schwer.

Systox

1. *Umsatz mit Natriummethylat* (Bildung von *Äthandithiol-methyläthyläther*).

a) Untersuchung des Reaktionsproduktes auf der Dünnschichtplatte neben Äthandithiol-methyläthyläther als Testsubstanz.

Sprühreagens: alkoholische Kupferchloridlösung.

b) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens unter Bildung des Äthandithiol-methyläthyläther-Kupferkomplexes auf dem Objektträger; Betrachtung im Mikroskop.

c) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens im Mikrozentrifugenglas; Bestimmung des Schmelzpunktes.

d) Gaschromatographischer Nachweis.

2. *Umsatz mit Natriumäthylat* (Bildung von *Äthandithiol-diäthyläther*).

a) Untersuchung des Reaktionsproduktes auf der Dünnschichtplatte neben Äthandithiol-diäthyläther als Testsubstanz.

Sprühreagens: alkoholische Kupferchloridlösung.

b) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens unter Bildung des Äthandithiol-diäthyläther-Kupferkomplexes auf dem Objektträger. Betrachtung im Mikroskop.

c) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens im Mikrozentrifugenglas; Bestimmung des Schmelzpunktes.

d) Gaschromatographischer Nachweis.

3. *Umsatz mit konz. HCl* (Bildung von *β-Mercaptoäthylthioäthyläther*).

a) Prüfung des Reaktionsproduktes auf der Dünnschichtplatte. Entwicklung der Platte mit dem alkoholischen Kupferreagens sowie mit dem noch empfindlicheren alkoholischen Kobaltreagens.

b) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens unter Bildung des β-Mercaptoäthylthioäthyläther-Kupferkomplexes auf dem Objektträger; Betrachtung im Mikroskop.

c) Umsatz mit dem alkoholischen Kupferreagens im Mikrozentrifugenglas; Bestimmung des Schmelzpunktes des Kristallkomplexes.

d) Gaschromatographischer Nachweis.

Eine *Unterscheidung von Systox und Metasystox* ist möglich durch den Umsatz mit Natrium-*Äthylat* (2a—d), wobei Systox Äthandithiol-diäthyläther, Metasystox dagegen Äthandithiol-methyläthyläther bildet.

Zusammenfassung

Die Reaktionsprodukte des Systox und Metasystox bei Hydrolyse und Umsatz mit Natriumäthylat, Äthandithiol-methyläthyläther, Äthandithiol-diäthyläther sowie β-Mercaptoäthylthioäthyläther, lassen sich durch charakteristische kristallisierende Schwermetall-Komplexe einfach nachweisen. Die verwendeten Metallsalzlösungen eignen sich auch als Sprühreagentien zur Identifizierung der Spaltprodukte nach dünnschichtchromatographischer Trennung.

Literatur

Cook, J. W.: Paper chromatography of some organic phosphate insecticides I. New spot test. J. Ass. off. agr. Chem. **37**, 985 (1954).

Fischer, K., u. W. Specht: Kritische Bemerkungen zum Metasystox-Nachweis. Arch. Toxikol. **16**, 278 (1957).

Fischer, R., u. W. Klingelhöller: Der Nachweis und die quantitative Bestimmung von Thiophosphorsäureestern in biologischem Material. Arch. Toxikol. **19**, 119 (1961).

Hieber, W.: Über Metallcarbonyle. X. Über Eisencarbonyl-halogenide. I. Substitutionen an Eisentetracarbonyl-halogeniden. Z. anorg. allg. Chem. **201**, 329 (1931).

Tschugaeff, L.: Über Komplexverbindungen organischer Disulfide. Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 2222 (1908).

Weinig, E., L. Lautenbach u. M. Geldmacher-Mallinckrodt: Gaschromatographische Studien zum Nachweis von Metasystox. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **51**, 565 (1961).

Dr. med. Dr. phil. nat. Marika Geldmacher-Mallinckrodt und Ute Weigel, Institut für gerichtliche Medizin, 852 Erlangen, Universitätsstraße 22

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Dr. M. Geldmacher-Mallinckrodt für die zahlreichen Anregungen und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit

Lebenslauf

Am 11. 9. 1937 wurde ich, Ute Weigel, als Tochter des Dipl.-Ing. Alfred Weigel und seiner Ehefrrau Hildegard, geb. Kleinert, in Berlin-Charlottenburg geboren.

In Berlin besuchte ich die Volks- und Oberschule. 1952 zog unsere Familie nach Erlangen, wo ich 1957 das Abitur an der Ohm-Oberrealschule bestand.

Im Wintersemester 1957/58 begann ich an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen das Medizinstudium. Ich legte im Sommersemester 1958 das Vorphysikum, nach dem Wintersemester 1959/60 das Physikum ab. Mein Studium beendete ich mit der ärztlichen Prüfung im August 1963 an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.